

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑪ DE 3203957 A1

⑳ Aktenzeichen: P 32 03 957.3
㉑ Anmeldetag: 5. 2. 82
㉒ Offenlegungstag: 18. 8. 83

㉓ Int. Cl. 3:
C07 G 7/00
A 61 L 15/00
A 61 K 9/70
A 61 K 33/42
A 61 K 7/48
A 61 L 15/01

DE 3203957 A1

Behördeneigentlich

㉔ Anmelder:
Chemokol Gesellschaft zur Entwicklung von
Kollagenprodukten, 5190 Stolberg, DE

㉕ Erfinder:
Eckmayer, Zdenek, 6940 Weinheim, DE

㉖ Verfahren zur Herstellung von feinporigen Kollagenschwämmen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von feinporigen Kollagenfasergeflechten aus Rinder- oder Schweinekollagen, bei dem man die Kollagen-Rohstoffe mit Alkali, Säuren, Wasserstoffperoxid und/oder proteolytischen Enzymen aufschließt, von Begleitstoffen befreit und reinigt, mit einer wäßrigen Säure oder mit wäßrigem Alkali anquillt, mechanisch zerkleinert, mit Wasser auf einen Verdünnungsgrad von ca. 2,0 Gew.-% Trockengehalt verdünnt, gefriert und zur Stabilisierung der Struktur entwässert, bei dem man die Quellung des aufgeschlossenen und gereinigten Kollagenmaterials bis zur Aufnahme von 500 bis 1000 Gew.-% Wasser vornimmt und das gequollene Material nach dem Zerkleinern und Verdünnen auf einen Feststoffgehalt von ca. 2% 30 Minuten bis 4 Stunden gefriert. Den erfindungsgemäß hergestellten feinporigen Kollagenfasergeflechten können bei der Herstellung pharmakologische oder kosmetische Wirkstoffe sowie auch zur Verbesserung des Sprunges und der Festigkeit Textilfasern oder zur Herstellung von Knochenersatzmaterial Hydroxyapatit und/oder Calciumphosphat zugemischt werden.
(32 03 957)

DE 3203957 A1

05.00.02
HOFFMANN · EITTE & PARTNER
PATENTANWÄLTE

3203957

DR. ING. E. HOFFMANN (1930-1976) · DIPL.-ING. W. EITTE · DR. RER. NAT. K. HOFFMANN · DIPL.-ING. W. LEHN
DIPL.-ING. K. FOCHSIE · DR. RER. NAT. D. HANSEN
ARABELLSTRASSE 4 · D-8000 MUNCHEN 81 · TELEFON (089) 911087 · TELEX 05-29619 (PATHE)

CHEMOKOL-Gesellschaft zur Entwicklung von Kollagenprodukten,
Stolberg

Verfahren zur Herstellung von feinporigen Kollagen-
schwämmen

P A T E N T A N S P R Ü C H E

1. Verfahren zur Herstellung von feinporigen Kollagen-
schwämmen aus Rinder- oder Schweinekollagen, bei
dem man die Kollagen-Rohstoffe mit Alkali, Säuren,
Wasserstoffperoxid und/oder proteolytischen Enzymen
5 aufschließt, von Begleitstoffen befreit und auf einen
Amidstickstoffgehalt von 3,0 bis 4,0 mmol/g reinigt,
mit einer wässrigen Säure (bei HCl auf einen pH von
etwa 3) oder mit wässrigem Alkali (bei NaOH auf einen
pH von etwa 12,5) anquillt, mechanisch zerkleinert,
10 mit Wasser auf einen Verdünnungsgrad von ca. 2,0 Gew.-%
Trockengehalt verdünnt, gefriert und zur Stabilisierung der
Struktur gefriertrocknet oder mit Gerbstoff behandelt und
konditioniert und entwässert, dadurch g e k e n n -
z e i c h n e t , daß man die Quellung des aufge-
15 schlossenen und gereinigten Kollagenmaterials bis zur
Aufnahme von 650 bis 800 Gew.-% Wasser, gemessen bei
pH 3 oder pH 12,5 vornimmt und das so gequollene Mate-
rial nach dem Zerkleinern und Verdünnen auf einen

- 2 -

Feststoffgehalt von ca. 2 % 30 Minuten bis 4 Stunden gefriert.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch g e k e n n -
5 z e i c h n e t , daß man das Gefrieren in 1 1/2 bis
2 1/2 Stunden bis zur völligen Gefrierung durchführt.
3. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t , daß man zu-
10 sätzlich durch ein pharmakologisch nicht störendes
Vernetzungsmittel stabilisiert.
4. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch g e k e n n -
z e i c h n e t , daß man dem gereinigten Ausgangs-
15 material zur Verbesserung des Sprunges und der
Festigkeit der Kollagenfasergeflechte beim isoelektri-
schen Punkt Textilfasern zumischt.
5. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch g e k e n n -
20 z e i c h n e t , daß man zur Herstellung von
Knochenersatzmaterial beim isoelektrischen Punkt
vor dem Einfrieren Hydroxyapatit und/oder Calcium-
phosphat zumischt.

25

DR. ING. E. HOFFMANN (1930-1976) · DIPL.-ING. W. EITLE · DR. RER. NAT. K. HOFFMANN · DIPL.-ING. W. LEHN
DIPL.-ING. K. FUCHSLE · DR. RER. NAT. B. HANSEN
ARABELLASTRASSE 4 · D-5000 MÜNCHEN 81 · TELEFON (089) 911087 · TELEX 05-27619 (PATHE)

- 3 -

CHEMOKOL Gesellschaft zur Entwicklung von Kollagenprodukten,
Stolberg

Verfahren zur Herstellung von feinporigen Kollagen-
schwämmen

Die Erfindung betrifft die Herstellung von feinporigen Kollagenschwämmen. Sie betrifft insbesondere ein Verfahren, bei dem man bestimmte, an sich bekannte Verfahrensmassnahmen in spezieller kontrollierter Weise
5 durchföhrt.

Die Herstellung von Kollagenfasergeflechten (Kollagenschwämmen) ist aus zahlreichen Literaturstellen bekannt. So wird in der DE-OS 18 11 290 die Herstellung von Kollagenfasergeflechten beschrieben, indem man Haut oder Sehnen von Tieren alkalisch oder sauer aufschlieBt und mechanisch zerkleinert und gegebenenfalls nach Zugabe von Additiven, wie Vernetzungsmitteln, Weichmachern oder Arzneimitteln - zu einem homogenen Kollagenbrei aufschlämmt,
10 den Kollagenbrei einfriert und dann entwässert. Aus
15

dieser Offenlegungsschrift ist auch bekannt, die zerkleinerte Kollagenmasse zu schäumen und den geschäumten Kollagenbrei einzufrieren, 1 bis 30 Tage zu lagern und dann aufzutauen, worauf man die Hauptmenge des Wassers
5 auspreßt und das ausgepreßte Kollagenfasergeflecht bei Zimmertemperatur trocknet.

Aus DE-OS 26 25 289 ist weiter bekannt, ein gereinigtes Kollagenmaterial zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten durch Gefriertrocknen zu entwässern. Kollagenschäume werden gemäß DE-OS 17 17 118 dadurch gehalten, daß man eine durch Aufschluß von Leimgallerten gewonnene Kollagenmasse mit Wasser bis zu einem Trockensubstanzgehalt von 0,3 bis 4,0 g homogenisiert und die homogene
15 Masse dann gefrieren läßt und anschließend das Wasser entfernt.

Es ist weiterhin bekannt, daß man Kollagenfasergeflechte auch dadurch erhalten kann, daß man Kollagen-
20 dispersionen einfriert und dann mit organischen, mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln das Wasser schonend auswäscht. Schließlich ist es auch bekannt, Vernetzungsmittel bei der Herstellung von Kollagenfasergeflechten einzusetzen, um dadurch eine Stabilisierung zu erzielen.
25

Bei den bekannten Verfahren des Standes der Technik zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten ist die Ausbildung der Struktur im wesentlichen durch die Art der Gefriertrocknung gegeben. Die Reproduzierbarkeit von
30 Kollagenfasergeflechten mit gleicher konstanter Struktur und gleicher Porosität ist dabei nicht gewährleistet.

35 Der vorliegenden Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde,

daß zur Ausbildung von reproduzierbaren Kollagenfaser-
geflechten der Quellungsgrad und das Einfrier-Verfah-
ren des gequollenen, zerkleinerten und homogenisierten
Materials eine ausschlaggebende Rolle spielen.

5

Aufgabe der Erfindung ist es deshalb, ein Verfahren zur
Herstellung von feinporigen Kollagenfasergeflechten zur
Verfügung zu stellen, bei dem man reproduzierbar aber
mit einer großen beabsichtigten Variabilität feinporige

10 Kollagenschwämme erhält, die für zahlreiche medi-
zinische Anwendungen geeignet sind.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren gemäß dem Patent-
anspruch 1 gelöst.

15

Die Unteransprüche beinhalten bevorzugte und /oder vor-
teilhafte Ausführungsformen des beanspruchten Verfah-
rens.

20 Als Rohstoff zur Herstellung des erfindungsgemäßen
Kollagenfasergeflechtes dienen Rinder- oder Schweine-
häute oder Rinderachillessehnen. Diese Ausgangsmateria-
lien werden in bekannter Weise vorbehandelt. Rinder-
oder Schweinehäute werden, wie dies auch in der Leder-
25 industrie üblich ist, durch Weichen, Äschern, Enthaaren,
Entfleischen und Spalten vorbehandelt und dann in be-
kannter Weise durch Einwirkung von Säuren, Alkali,
Wasserstoffperoxid und/oder proteolytischen Enzymen auf-
geschlossen. Dieser Aufschluß, der noch zur Vorbehand-
30 lung des Kollagenrohstoffes gezählt wird, dient dazu,
das Kollagen von allen Begleitstoffen zu befreien und
so sauber zu erhalten, daß im wesentlichen keine
störenden Begleitstoffe mehr vorhanden sind. Dies be-
deutet, daß Begleitproteine (wie Albumine oder Globu-
35 line), Glykosaminglykane, Proteoglykane und Fette, die

dem tierischen Ausgangsmaterial noch anhaften, entfernt werden. Dabei erfolgt die chemische Behandlung intensiver und gründlicher, als dies in der Lederindustrie üblich ist, weil das Kollagenmaterial anschließend für die Verwendung für chirurgische und kosmetische Zwecke weiterbehandelt wird. Durch die Säurebehandlung werden im wesentlichen säurelösliche Begleitstoffe entfernt und gleichzeitig die Struktur des nativen Kollagens aufgelockert.

10

Ein Maß für die chemische Reinigung ist die Bestimmung des Amid-Stickstoffes. Durch die Reinigung wird der Wert um etwa 0,3 bis 0,5 m mol/g gesenkt und zwar auf den Wert von 2,0 bis 4,0 m mol/g.

15

Die chemische Vorbehandlung wird grundsätzlich mit solchen Reagentien durchgeführt, die sich entweder vollständig entfernen lassen und/oder nicht toxisch sind. Deshalb wird man nur solche Reagentien verwenden, die selbst frei von störenden Verunreinigungen sind. Für die Säurebehandlung hat sich Salzsäure bewährt, so daß man grundsätzlich hierfür Salzsäure verwendet.

20

Die analytische Beurteilung des Ergebnisses der chemischen Vorbehandlung besteht im wesentlichen in der Erfassung von 2 Faktoren:

25

a) Reinigungsgrad (Reife) des Kollagens und

30

b) Quellungsgrad des Kollagens

Der Reinigungsgrad wird durch übliche analytische Verfahren festgestellt. Von ganz wesentlicher Bedeutung ist der Quellungsgrad des Kollagens. Die Vorbehandlung, d.h. der Aufschluß des Kollagens muß so vorgenommen werden, daß das Kollagen eine Quellbarkeit aufweist, die der Aufnahme von 650 bis 800 Gew.% Wasser entspricht. Bei einem pH 3, wie er sich beim Aufschluß mit HCl einstellt, muß das Kollagen die 6- bis 8-fache Menge Wasser, bezogen auf sein Gewicht, aufnehmen. Eine

35

40

maximale Quellung mit HCl wird zwar bei einem pH von 2,0 erzielt, jedoch mißt man üblicher Weise den Quellungswert bei dem pH-Wert von 3,0, weil das mit HCl aufgeschlossene Material diesen pH-Wert aufweist.

5

Die Quellung des Kollagens ist von einer Reihe von Faktoren abhängig und wird durch diese beeinflußt:

10 Junges Bindegewebe, also Material von jungen Tieren quillt stärker als das von alten Tieren. Neben der chemischen Vorbehandlung bei der Reinigung und dem Aufschluß des Materials spielt hierbei auch die dabei durchgeführte mechanische Behandlung eine große Rolle. Ein stark chemisch vorbehandeltes Material quillt
15 stärker als ein weniger stark vorbehandeltes Material und ein zerkleinertes Material quillt stärker als ein nicht zerkleinertes Material.

20 Wie schon erwähnt, ist die Quellbarkeit auch von dem pH-Wert und der Reife des Kollagens abhängig.

Die Quellung des Kollagens wird zweckmäßig nach der sogenannten Kubelka-Methode bestimmt (KUBELKA, K: Das Kollagengewebe der Haut (tschech.) BRATISLAVA 1961),
25 wobei die Abnahme der Menge einer vorgelegten Quellflüssigkeit ermittelt wird.

Das mit einer wässrigen Säure oder mit wässrigen Alkali angequollene Kollagen wird anschließend mechanisch
30 zerkleinert. Diese Zerkleinerung kann beispielsweise durch ein- oder mehrmaliges Zerkleinern mit einem Fleischwolf erfolgen. Eine zu starke Zerkleinerung, d.h. Verkürzung der Fasern ist nicht zweckmäßig, deshalb erfolgt die mechanische Zerkleinerung vorzugsweise bis
35 zu einem durchschnittlichen Durchmesser von ca. 6mm. Anstelle

eines Fleischwolfes könnten auch andere Zerkleinerungsvorrichtungen, wie Zahnscheibenmühlen verwendet werden.

5

Das zerkleinerte Material wird anschließend mit Wasser
10 auf einen Verdünnungsgrad von ca. 2,0 Gew.% Trocken-
gehalt verdünnt. Ein Trockengehalt zwischen 1 bis 3 %, insbesondere 1,3 bis 2,6 % ist möglich, wobei jedoch die besten Werte bei der weiteren Herstellung von feinporigen Kollagenfasergeflechten mit einem Trockengehalt
15 von ca. 2 % erzielt werden.

Das verdünnte, zerkleinerte und gequollene Material kann anschließend, je nach dem vorgesehenen Verwendungszweck, noch weiter homogenisiert werden, z. B. in
20 einer Kolloidmühle.

Anschließend wird das gegebenenfalls in einer Kolloidmühle homogenisierte Material eingefroren. Das Einfrieren muß dabei unter genau kontrollierten Bedingungen durchgeführt werden, wobei insbesondere die Einfrierungszeit genau einzuhalten ist. Diese beträgt eine halbe bis vier Stunden und vorzugsweise eineinhalb bis zweieinhalb Stunden bei einem Material einer Dicke von 2,5 cm. Man kann das Einfrieren mit Hilfe
25 von Sole oder einem geeigneten Froster durchführen. Langsames Einfrieren oder Gefrieren bei verhältnismäßig hohen Temperaturen ergibt gröbere Eiskristalle und eine grobe innere Struktur. Kurzes Gefrieren führt zu einem feinkristallinen Produkt mit sehr feinen
30 Poren. Je nach der beabsichtigten Verwendung des Ma-

terials für bestimmte chirurgische bzw. prothetische oder kosmetische Zwecke werden die Einfrierbedingungen ausgewählt.

- 5 Das gefrorene Produkt wird anschließend zur Stabilisierung der Struktur entwässert. Diese Entwässerung kann auf verschiedene Weise vorgenommen werden und hängt im wesentlichen auch davon ab, ob und in welchem Umfang zuvor gegebenenfalls chemische Vernetzungs- und
- 10 Stabilisierungsmittel zugegeben worden sind. Auf diese Vernetzungsmittel wird später noch hingewiesen werden. Sind chemische Vernetzungsmittel verwendet worden, so erfolgt die Entwässerung nicht durch Gefriertrocknung. Vielmehr wird nach einer Konditionierungszeit des gefrorenen Produktes das Material
- 15 aufgetaut und das Wasser abgequetscht. Nicht durch chemische Vernetzungsmittel stabilisierte Produkte werden zweckmäßiger Weise durch Gefriertrocknung in an sich bekannter Weise entwässert und stabilisiert.

20

Bisher sind die Grundmaßnahmen, die für die Herstellung von feinporigen Kollagenfasergeflechten eine Rolle spielen, beschrieben worden, wobei die Betonung darauf lag, daß der Quellungsgrad in spezieller Weise eingestellt wird und auch das Gefrieren des Produktes in

25 spezieller überwachter Weise erfolgt.

Um feinporige Kollagenfasergeflechte den speziellen Verwendungszwecken anzupassen, sind nun eine Reihe von,

30 zum Teil an sich bekannten, Maßnahmen möglich oder erforderlich:

Zur Herstellung von Knochenersatzmaterialien kann man dem Kollagenmaterial die für den Knochenersatz wichtigen Zusätze zusetzen, beispielsweise Calciumphosphat

35 und Hydroxyapatit.

Diese Zumischung erfolgt nach dem Homogenisieren aber vor dem Gefrieren. Dabei müssen die Knochenersatzmaterialien im alkalischen Bereich hergestellt werden. Dazu werden zwei Vorgänge durchgeführt:

5

a) Beim isoelektrischen Punkt des Materials werden die für den Knochenersatz wichtigen Zusätze zugemischt.

10 b) Anschließend wird der pH-Wert auf den gewünschten Grad eingestellt.

Eine Mischung für die Knochenersatzherstellung kann zum Beispiel 10 bis 70 % Calciumphosphat enthalten. Die optimale Quellung bei einem solchen Produkt verläuft bei pH-Werten von 9,5 bis 11,5, wobei der Amidstickstoffgehalt des Kollagenrohstoffes bei 0,30 bis 0,40 Gew.% liegen soll. Bei der Herstellung von Knochenersatzmaterial erfolgt die Stabilisierung der Struktur zweckmäßiger Weise durch Gefriertrocknung.

20

Weiterhin ist es möglich, vor dem Einfrieren der Kollagenmasse Textilfasern beizumischen. Dies kann zum Beispiel erfolgen, um dem fertigen Kollagenfasergeflechten einen besseren Sprung oder eine höhere Festigkeit zu vermitteln. Geeignete Fasern sind beispielsweise solche, wie sie auch schon für synthetische Nahtmaterialien verwendet worden sind und auch solche, die bisher vorwiegend für textile oder industrielle Zwecke eingesetzt wurden. Genannt werden können hier beispielsweise Fasern aus Polyester, Polyamiden, Polyvinylalkohol, Wolle, Baumwolle, Zellstoff und Viskose. Die Länge der Fasern ist sehr variabel. Sie kann zwischen etwa 3 bis 50 mm liegen. Die Menge, bezogen auf das Trockengewicht der Kollagenfasern, beträgt im allgemeinen etwa 10 bis 60 Gew.%.

35

Die Zusammenmischung der Fasern erfolgt beim isoelektrischen Punkt des Materials. Anschließend wird dann der pH-Wert auf den gewünschten Grad eingestellt.

Vor dem Einfrieren können dem Kollagenmaterial eine Reihe von Zusatzstoffen zugegeben werden. Hier sind besonders Vernetzungsmittel zu erwähnen. Weil die meisten Vernetzungsmittel physiologisch nicht unbedenklich
5 sind, kommen hierfür im wesentlichen nur spezielle Produkte in Frage. Hierzu gehören insbesondere aliphatische Diisocyanate, die mit den Aminogruppen unter Harnstoffgruppenbildung reagieren und physiologisch unbedenklich sind. Durch die Art und die Menge des verwendeten Diiso-
10 cianats kann man die physiologischen Eigenschaften des Endproduktes erheblich beeinflussen.

Die Verwendung von Diisocyanaten als Vernetzungsmittel ist grundsätzlich bekannt. Bekannt ist auch, daß man
15 bei der Verwendung von Diisocyanaten nichtionogene Emulgatoren verwenden muß.

Weitere geeignete Vernetzungsmittel sind solche, die schon bei der Herstellung von Blutplasma verwendet
20 wurden, nämlich Glyoxal und Succinylanhydrid. Glyoxal wird zweckmäßiger Weise in Mengen von 6 bis 10 %, bezogen auf den Trockengehalt des Kollagenproduktes, angewendet und im sauren pH (etwa 2,5 bis 4,0) eingemischt. Ein derartig vernetztes Produkt wird zweckmäßiger Weise
25 etwa 3 bis 12 Tage eingefroren, wobei im eingefrorenen Zustand die Vernetzungsreaktion langsam abläuft.

Wird Succinylanhydrid als Vernetzungsmittel verwendet, so beträgt die Menge hierbei vorzugsweise etwa 5 bis
30 30 %, bezogen auf das Trockengewicht des Kollagenmaterials. Auch in diesem Fall wird das Produkt nach dem Einfrieren längere Zeit, zum Beispiel eine Woche oder länger stehen gelassen, wobei die Vernetzungsreaktion dann abläuft.

Die genau verwendete Menge des Vernetzungsmittels steht im Zusammenhang mit der Art des Vernetzungsmittels und der beabsichtigten Verwendung des Kollagenfaser-
geflechtes. Die Vernetzungsmittel beeinflussen die
5 physikalischen und chemischen Eigenschaften und das Aussehen des fertigen Materials. Wichtig ist, daß die Vernetzungsreaktion dem Quellzustand des zerfaserten Kollagens genau angepaßt wird. Die Vernetzungsreaktion selbst soll nicht zu schnell verlaufen, um
10 nicht eine vorzeitige Entquellung des Kollagens und damit die Bildung von harten, folienartigen Gebilden zu bewirken. Eine sehr langsam stattfindende Vernetzung, wie sie insbesondere bei tiefen Temperaturen erfolgt, benötigt entsprechend längere Zeiten. Die Menge des Vernetzungsmittels muß so gewählt werden, daß bei einer
15 späteren Lagerung des Materials durch noch nicht umgesetztes Vernetzungsmittel keine Nachvernetzung und damit keine unbeabsichtigte Veränderung des Materials abläuft. Wie bereits erwähnt, werden die vernetzten
20 Materialien nicht gefriergetrocknet, sondern das Wasser wird mechanisch abgequetscht.

Die Vernetzungsmittel werden dem Kollagenbrei vor dem Einfrieren zusammen mit kosmetischen Wirkstoffen, Parfümen oder pharmakologisch wirksamen Stoffen zugemischt.
25 Besonders interessant ist die Wirkung verschiedener Emulgatoren, die positiven Einfluß auf die Eigenschaften des Geflechtes haben. Dieser Einfluß kann mit der Wirkung von Fettstoffen bei der Lederindustrieerzeugung verglichen
30 werden.

Kollagen wirkt im Körper wie ein Ionehaustauscher und bindet Elektrolyten, Metaboliten und ebenso Arzneimittel. Da diese Eigenschaften in dem fertigen feinporigen Kollagenfasergeflecht erhalten bleiben, können die Geflechte
35 vorteilhaft als Träger von Wirkstoffen verwendet werden.

1 Beispiel 1:1.1. Rohstoff

50 kg Spalten aus Rinderhälsen nach einem bei der Lederherstellung üblichen Verfahren geweicht, geäschert,
5 entfleischt, enthaart und gespalten. Das Trockengewicht des Materials beträgt 20 Gew. %.

1.2. Alkalische Behandlung

110 l Wasser, 0,8 l NaOH (50 Gew. %); 0,3 kg H₂O₂
10 (35 Gew. %), langsam gerührt, Behandlungszeit 12 bis 24 h.

1.3. Waschen

1 h in fließendem kaltem Wasser.

15

1.4. Analytische Kontrolle

Amid-Stickstoff-Gehalt beträgt 0,43 m mol/g.

1.5. Säure-Behandlung

20 Anschließend 90 Minuten Waschen in fließendem kaltem Wasser, anschließende Behandlung im Gerberfaß: Kollagenmaterial, 5 kg HCl (35 Gew. %), 30 kg Wasser; 6 h intensive Bewegung; die Spalten werden in ganzer Dicke durchgesäuert. Anschließend 4 h in fließendem
25 Wasser waschen. pH-Wert nach dem Waschen 3,0; Amid-Stickstoff 0,41 m mol/g. Quellung des Materials beträgt 714 % etwa 14 Gew. % Trockengewicht (nach der Kubelka-Methode bestimmt).

30 1.6. Zerkleinerung

Das Material wird zuerst auf die Stücke 20 x 20 cm geschnitten und anschließend im Fleischwolf zweimal gemahlen (Lochscheibe - 20 - 10 mm).

35

1 1.7. Verdünnung

Die ca. 14 Gew.%ige Masse wird mit destilliertem Wasser auf die Konzentration 1,8 bis 2,2 Gew. % verdünnt. Anschließend folgt die Homogenisierung durch dreimaligen
5 Durchlauf durch eine Kolloidmühle. Das Trockengewicht der Masse wird genau auf 2,0 eingestellt. Der pH-Wert wird mit verdünnter HCl wieder auf 3,0 eingestellt.

1.8. Masseneinstellung

10 Zu der gut homogenisierten Masse werden 600 g nichtionogener Emulgator zugemischt (z. B. ethoxyliertes Oktylphenol von 9 bis 10 Alkoxygruppen) und anschließend 2,5 kg Hexamethyldiisocyanat, bezogen auf Trockensubstanz,
in die Suspension eingemischt und wegen Gelierungsgefahr
15 innerhalb 10 Minuten in die Formen eingebracht. Schichtenhöhe in den Formen 2,5 cm.

1.9. Einfrieren

Die gefüllten Formen werden nun mit Hilfe einer Sole eingefroren (Einfrierungszeit 2 1/2 Stunden.) Temperatur der Sole - 15°C. Anschließend wird das Material
20 entformt.

1.10. Konditionieren

25 Nach dem Einfrieren erfolgt eine weitere Lagerung (Konditionierung) in einem Kühlraum. Temperatur - 5°C, Zeit 7 Tage.

1.11. Auftauen und Waschen

30 Nach der Beendigung des Konditionierens werden die Schwämme in erwärmtem Wasser (etwa 30°C) aufgetaut. Es folgt das Abquetschen und Auswaschen mit fließendem Wasser. Dieser Vorgang wird 4 x wiederholt.

1.12. Trocknung und Zurichtung

35 Nach dem Auswaschen werden die Schwämme bei Raumtemperatur

1 getrocknet. Die getrockneten Schwämme werden auf die gewünschte Dicke gespalten, gestanzt und verpackt und sind als Verbandmaterial für Wundbehandlung verwendbar. Dichte: 0,02

5

Beispiel 2:

50 kg Rinderhäuse wurden gemäß Beispiel 1 chemisch und mechanisch behandelt, verdünnt und mit verdünnter Salzsäure auf den pH-Wert 3,0 eingestellt. Das Trockengewicht der homogenisierten Masse beträgt genau 2,0; Amid-Stickstoff 0,39 m mol/g. Quellung des Materials beträgt 729 Gew.%.
10

15 Die homogenisierte Kollagenmasse wird im Vakuumkessel entlüftet, in Formen abgefüllt und in einem Solenbad bei Temperatur - 15°C eingefroren. Einfrierungszeit beträgt 2 Stunden. Die auf diese Weise erhaltenen 2,5 cm dicken Kollagenplatten werden anschließend gefriergetrocknet. Die gefriergetrockneten Platten werden auf
20 die erwünschte Dicke gespalten, gestanzt und verpackt. Das Material kann als Hämostyptikum verwendet werden.

Die Dichte dieses Schwammes ist vergleichbar mit dem Schwamm, der im Beispiel 1 beschrieben wurde.
25

Beispiel 3:

10 kg Spalten aus Rinderhälsen werden chemisch und mechanisch gemäß Beispiel 1 behandelt, verdünnt und mit verdünnter Salzsäure auf den pH-Wert eingestellt. Das Trockengewicht beträgt genau 2,0 %; Amid-Stickstoff 0,38; die Wasseraufnahme des Materials beträgt 732 Gew.%.
30

35

1 Die gut homogenisierte Masse wird nun mit 5 %iger
Natronlauge auf den pH-Wert 5,5 eingestellt. Nach
kurzem Rühren trennen sich die entquollenen Kollagen-
fasern von dem Quellwasser. Dann werden 60 Teile
5 Calciumphosphat (auf Trockengewicht des Kollagens ge-
rechnet) in die Masse eingerührt. Der Rohstoff läßt
sich gut homogenisieren. Anschließend wird der pH-Wert
langsam auf den Wert 11,5 eingestellt. Die Kollagen-
fasern sind jetzt wieder voll angequollen. Der Brei
10 wird durch einen Durchlauf durch die Kolloidmühle
homogenisiert. Die homogenisierte Kollagenmasse wird in
Formen abgefüllt und in einem Solenbad bei Temperatur
von - 15°C eingefroren. Die Einfrierungszeit beträgt
150 Minuten und die Dicke der Schicht 2 1/2 cm. An-
15 schließlich werden die Platten gefriergetrocknet. Nach
der Gefrieretrocknung werden die Platten auf die ge-
wünschte Dicke gespalten, gestanzt, sterilisiert und
verpackt.

20

25

30

35

DE3203957

Publication Title:

Method for the production of fine-pore collagen sponges

Abstract:

The invention relates to a method for the production of fine-pore collagen fibre networks composed of bovine or porcine collagen, in which the collagen raw materials are decomposed with alkali, acids, hydrogen peroxide and/or proteolytic enzymes, freed from concomitant substances and purified, swollen with an aqueous acid or with aqueous alkali, mechanically comminuted, diluted with water to a degree of dilution of about 2.0% by weight dry content, frozen and dehydrated to stabilise the structure, in which the swelling of the decomposed and purified collagen material is carried out until 500 to 1000% by weight of water has been absorbed and the swollen material, after comminuting and diluting to a solids content of about 2%, is frozen for 30 minutes to 4 hours. In the production of pharmacological or cosmetic active substances and also for improving the resilience and the strength of textile fibres or for the production of bone replacement material, hydroxyapatite and/or calcium phosphate can be admixed with the fine-pore collagen fibre networks prepared according to the invention.

Data supplied from the esp@cenet database - <http://ep.espacenet.com>